Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 40, No. 1, Page 104-129 (2024)

DOI:10.22092/ijmapr.2023.362241.3320

Effect of inoculation with plant growth-promoting microorganisms on some morphophysiological characteristics and essential oil and nutrients content of basil (*Ocimum basilicum* L.) under NaCl salinity stress

Kosar Taheri Boukani[1], Abbas Hassani[2*], Mirhasan Rasouli-Sadaghiani[3], Mohsen Barin[3] and Ramin Maleki[4]

1- Ph.D. student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2*- Corresponding author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
E-mail: a.hassani@urmia.ac.ir
3- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
4- Research Department of Chromatography, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Urmia, Iran

Received: April 2023 Revised: December 2023 Accepted: December 2023

Abstract

Background and objectives: Basil (*Ocimum basilicum* L.) is an annual herbaceous plant belonging to the mint family (Lamiaceae). Its fresh and dried leaves and essential oils are used in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. In recent years, the use of symbiosis with plant beneficial rhizospheric microorganisms including rhizobacteria and endophytic fungi has been considered as a cost-efficient and sustainable strategy to alleviate the adverse effects of environmental stresses such as salinity. Therefore, the present study was conducted in the research greenhouse of Urmia University. It evaluated the effect of inoculation with growth-promoting microorganisms on some growth, physiological, and phytochemical characteristics of basil plants under salt-stress conditions.

Methodology: This research was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. The experimental factors were inoculation with microorganisms at three levels (control without inoculation, inoculation with *Serendipita indica*, and inoculation with a mixture of *Pseudomonas areuginosa*, *P. putida*, and *P. fluorescens*) and salinity stress at four levels (0, 40, 80 and 120 mM of NaCl). For inoculation, the germinated seeds were separately inoculated with *S. indica* suspension (5×105 spores per ml) and inoculum containing a mixture of *Pseudomonas* bacteria (1.61×109 cells per ml) and planted in prepared pots. The pots were irrigated with ordinary tap water until the plants were eight-leafed, and from this stage onwards, salinity stress treatments were applied by dissolving different concentrations of NaCl in the irrigation water and continued until the full flowering stage. In the full flowering stage, plant samples were collected and root colonization percentage by fungus, growth parameters (plant height, stem diameter, number and total length of lateral branches, leaf number and area, inflorescence length, fresh and dry weight of leaf and stem), leaf relative water content (RWC), photosynthetic pigments, concentration of leaf nutrients (N, P, K, Na and Cl), essential oil content and yield were evaluated. For essential oil extraction, shade-dried samples were hydro-distilled using a Clevenger-type apparatus.

Results: The results showed that due to salinity stress, the percentage of root colonization by *S. indica*, growth parameters, RWC, photosynthetic pigments, essential oil content, yield, N, P,

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

and K content, and K/Na ratio decreased while Na and Cl content increased. In addition, all evaluated parameters in inoculated plants were higher than in non-inoculated plants except Na and Cl content. The highest and lowest rates of growth parameters, RWC (74.47 and 72.39%), essential oil yield (0.23 and 0.17 ml/pot), and N content of leaves (1.36 and 1.14%) were obtained in plants inoculated with *S. indica* and non-inoculated plants, respectively. The highest and lowest amounts of chlorophyll a (0.87 and 0.74 mg/g fw), chlorophyll b (0.41 and 0.37 mg/g fw), essential oil percentage (1.24 and 1.05%), K content (5.15 and 3.97%), P content (0.29 and 0.24%) and the K/Na ratio (10.05 and 4.07), were observed in plants inoculated with a mixture of *Pseudomonas* bacteria and non-inoculated plants, respectively. Also, the lowest Na (1.34%) and Cl (2.93%) accumulation was observed in plants inoculated with *Pseudomonas* bacteria and *S. indica* fungus, respectively.

Conclusion: According to the results of this study, the use of plant growth-promoting microorganisms (*S. indica* fungus and a mixture of *Pseudomonas* bacteria) can alleviate adverse effects of salinity stress on the growth and essential oil production of the basil plant by increasing the absorption of water and nutrients, preserving photosynthetic pigments and reducing the accumulation of toxic ions.

Keywords: Essential oil, Plant growth-promoting bacteria, Salt stress, *Serendipita indica* fungus, Chlorophyll, Relative water content.

تأثیر مایه‌کوبی با ریزجانداران محرک رشد بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی، میزان اسانس و عناصرغذایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش شوری ناشی از کلرور سدیم

کوثر طاهری بوکانی[۱]، عباس حسنی[۲*]، میرحسن رسولی صدقیانی[۳]، محسن برین[۴] و رامین ملکی[۵]

۱- دانشجوی دکترا، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، پست الکترونیک: a.hassani@urmia.ac.ir

۳- استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴- دانشیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۵- استادیار، گروه پژوهشی کروماتوگرافی، جهاد دانشگاهی آذربایجان‌غربی، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۲ تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی علفی، یک‌ساله و متعلق به تیره نعنا (Lamiaceae) است. از برگ‌های تازه و خشک‌شده و نیز اسانس این گیاه در صنایع غذایی، داروسازی و آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر استفاده از همزیستی با ریزجانداران محرک رشد مانند ریزوباکتری‌ها و قارچ‌های اندوفیت به‌عنوان راهکاری مقرون به‌صرفه و پایدار برای کاهش اثرهای سوء تنش‌های محیطی مانند شوری مورد توجه قرار گرفته است. ازاین‌رو، این مطالعه به‌منظور ارزیابی تأثیر مایه‌کوبی با ریزجانداران محرک رشد بر برخی ویژگی‌های رشدی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه ریحان در شرایط تنش شوری، به‌صورت آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل مایه‌کوبی با ریزجانداران در سه سطح (شاهد بدون مایه‌کوبی، مایه‌کوبی با قارچ *Serendipita indica* و مایه‌کوبی با مخلوط باکتری‌های *Pseudomonas areuginosa*، *P. putida* و *P. fluorescens*) و تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار نمک کلرور سدیم) بودند. برای انجام عمل مایه‌کوبی، بذرهای جوانه زده در شرایط آزمایشگاهی، به‌طور جداگانه با سوسپانسیون قارچ *S. indica* (حاوی ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر) و مایه تلقیح حاوی مخلوط باکتری‌های سودوموناس ($۱/۶۱\times۱۰^{۹}$ سلول در میلی‌لیتر) مایه‌کوبی شده و در گلدان‌های آماده کشت شدند. گلدان‌ها تا مرحله هشت برگی شدن بوته‌ها، با آب معمولی آبیاری شدند و از این مرحله به بعد، تیمارهای تنش شوری با حل کردن غلظت‌های مختلف نمک کلرور سدیم در آب آبیاری اعمال شده و تا زمان گلدهی کامل ادامه یافت. در مرحله گلدهی کامل پس از برداشت نمونه‌های گیاهی، درصد کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ، شاخص‌های رشدی (ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و مجموع طول شاخه‌های جانبی، تعداد و سطح برگ، طول گل‌آذین، وزن تر و خشک برگ و ساقه)، محتوی نسبی آب برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی، غلظت عناصر غذایی برگ (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، سدیم و کلر)، درصد و عملکرد اسانس اندازه‌گیری شد. استخراج اسانس از نمونه‌های گیاهی خشک شده در سایه، به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که تحت تأثیر شوری، درصد کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ، صفات رشدی، محتوی نسبی آب برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی، درصد و عملکرد اسانس، غلظت عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم کاهش، در حالی که غلظت سدیم و کلر افزایش یافت. به‌علاوه مقادیر صفات اندازه‌گیری شده بجز غلظت سدیم و کلر در گیاهان مایه‌کوبی شده بیشتر از گیاهان بدون مایه‌کوبی بود. بیشترین و کمترین میزان خصوصیات رشدی، محتوی نسبی آب (۷۴/۴۷ و ۷۲/۳۹ درصد)، عملکرد اسانس (۰/۲۳ و ۰/۱۷ میلی‌لیتر در گلدان) و محتوی نیتروژن (۱/۳۶٪ و ۱/۱۴٪) به‌ترتیب در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و گیاهان بدون مایه‌کوبی بدست آمد. بیشترین و کمترین مقادیر کلروفیل a (۰/۸۷ و ۰/۷۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۴۱ و ۰/۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، درصد اسانس (۱/۲۴٪ و ۱/۰۵٪)، محتوی پتاسیم (۵/۱۵٪ و ۳/۹۷٪) و فسفر (۰/۲۹٪ و ۰/۲۴٪) و نسبت پتاسیم به سدیم (۱۰/۰۵ و ۴/۰۷) به‌ترتیب در گیاهان مایه‌کوبی شده با باکتری‌های سودوموناس و گیاهان بدون مایه‌کوبی مشاهده شد. همچنین، کمترین میزان انباشت یون‌های سدیم (۱/۳۴٪) و کلر (۲/۹۳٪) به‌ترتیب در گیاهان مایه‌کوبی شده با باکتری‌های سودوموناس و قارچ *S. indica* مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج این پژوهش، استفاده از ریزجانداران محرک رشد گیاه (قارچ *S. indica* و مخلوطی از باکتری‌های سودوموناس) می‌تواند از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، حفظ رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش انباشت یون‌های سمّی سبب تعدیل اثرهای منفی تنش شوری بر رشد و تولید اسانس گیاه ریحان گردد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، باکتری‌های محرک رشد گیاه، تنش شوری، قارچ *Serendipita indica*، کلروفیل، محتوی نسبی آب.

مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی علفی، یک‌ساله و متعلق به خانواده نعنا (Lamiaceae) است که از دیرباز به‌عنوان یک گیاه دارویی مورد استفاده قرار می‌گرفته، اگرچه منشأ آن مناطق گرمسیری آسیا، آفریقا، آمریکای مرکزی و جنوبی گزارش شده است اما در حال حاضر در بسیاری از مناطق دنیا ازجمله ایران، ژاپن، چین و ترکیه به مقدار زیاد کشت و پرورش داده می‌شود (Purushothaman *et al.*, 2018). به‌طور عمومی ریحان به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیب‌های فنولیک (به‌ویژه رزمارینیک اسید و کافئیک اسید) و فلاونوئیدها شناخته شده است (Jayasinghe *et al.*, 2003). از سایر ترکیب‌های این گیاه می‌توان به ترپنوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، آنتوسیانین‌ها و آسکوربیک اسید اشاره کرد (Khair-ul-Bariyah *et al.*, 2012). ریحان به‌طور سنتی برای درمان اختلالات عصبی مانند سردرد، صرع، درد عصبی، افسردگی، میگرن، زوال عقل و سایر بیماری‌های عصبی استفاده می‌شود (Seyed *et al.*, 2021). مطالعات فارماکولوژیک روی ریحان فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی مانند محافظ عصبی، محافظت‌کننده کبد و قلب، ضدزخم، ضدالتهاب، ضددیابت و غیره را برای این گیاه نشان داده است (Touiss *et al.*, 2021؛ Purushothaman *et al.*, 2018).

شوری خاک، به‌عنوان یکی از نگران‌کننده‌ترین مسائل زیست محیطی در قرن بیست و یکم، حدود ۶٪ از کل مساحت زمین‌های قابل کشت جهان را تحت تأثیر خود قرار داده است و پیش‌بینی می‌شود تا اواسط قرن ۲۱، حدود ۵۰٪ از زمین‌های قابل کشت در اثر این عارضه قابلیت تولید خود را از دست بدهند (Hao *et al.*, 2021). شوری خاک (یا آب) ازجمله عوامل تنش‌زای محیطی است که علاوه‌بر اختلال و کاهش قابلیت جذب آب توسط ریشه‌ها، گیاهان را نیز از نظر تغذیه‌ای و فرایندهای متابولیکی دچار مشکل می‌کند و در موجودیت، رفتار، پراکنش، رشد و عملکرد گیاهان تأثیر بسزایی دارد (Zhao *et al.*, 2021). شوری

ایجاد شده با غالب بودن یون‌های سدیم و کلر، از سویی سبب افزایش فشار اسمزی سلول و تجمع سدیم در سطوح سمّی شده و از سوی دیگر دسترسی به کلسیم و پتاسیم را کاهش می‌دهد. همچنین با کاهش جابه‌جایی این عناصر به نقاط در حال رشد گیاه، اندام‌های رویشی و تولیدمثلی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Hao *et al*., 2021؛ Zhao *et al*., 2021). در پژوهش‌های متعددی اثر منفی تنش شوری بر خصوصیات رشدی و میزان اسانس در گیاهان مختلف ازجمله نعنا فلفلی (*Mentha piperita*) (Çoban & Baydar, 2016)، آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) (Zrig *et al*., 2016)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) (Bonacina *et al*., 2017)، شمعدانی (*Pelargonium graveolens*) (Hassanvand *et al*., 2019) و ریحان (Bahcesular *et al*., 2020) گزارش شده است. بااین‌حال، Ben Taarit و همکاران (۲۰۰۹) در مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، Salimi و همکاران (۲۰۱۷) در بومادران (*Achillea millefolium*)، Gohari و همکاران (۲۰۲۰) در بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) و Ebrahimi و همکاران (۲۰۲۱) در مرزنجوش (*Origanum vulgare*) افزایش محتوی اسانس را در شرایط تنش شوری گزارش کرده‌اند.

بیش از یک قرن از ظهور کودهای زیستی در عرصه صنعت و کشاورزی دنیا می‌گذرد و بیشتر از دو دهه از تولید آنها در کشور ایران سپری شده است (Sarikhani & Amini, 2020). کودهای زیستی، متشکل از ریزجانداران مفیدی هستند که برای اهداف مختلف به‌ویژه تثبیت نیتروژن، رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم، آهن و غیره تولید می‌شوند. این ریزجانداران معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر غذایی یاری می‌کنند (Wu *et al*., 2006). امروزه اثبات شده است که این ریزجانداران بیش از یک نقش دارند، یعنی علاوه بر کمک به جذب عنصر یا عناصری خاص، باعث کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک، تحریک رشد گیاه، افزایش کمّی و کیفی محصول و افزایش مقاومت گیاه به انواع تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی می‌شوند (Nagananda *et al*., 2010). در این راستا، در سال‌های اخیر اثرهای ریزجانداران ریزوسفری ازجمله قارچ‌ها و باکتری‌ها در بهبود بخشیدن شرایط تغذیه‌ای گیاهان و تعدیل اثرهای سوء عوامل تنش‌زای محیطی بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته است (Meena *et al*., 2017؛ Khademian *et al*., 2019).

باکتری‌های محرک رشد گیاه، ازجمله سودوموناس‌ها (*Pseudomonas*) گروهی از ریزجانداران هستند که توانایی همزیستی با گیاهان را داشته و می‌توانند با استفاده از سازوکارهایی از قبیل انحلال ترکیب‌های کم‌محلول و نامحلول، افزایش میزان در دسترس بودن عناصر غذایی، کنترل بیماری‌های گیاهی با تولید سیانید هیدروژن، افزایش تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی، سمّیت عناصر و تولید هورمون‌های گیاهی مانند ایندول استیک اسید (IAA) باعث افزایش رشد گیاه شوند (Rajkumar *et al*., 2017؛ Glick, 2014). طبق گزارش Lally و همکاران (۲۰۱۷) مایه‌کوبی گیاهان کلزا (*Brassica napus*) با باکتری *Pseudomonas fluorescens* باعث افزایش ارتفاع گیاه و زیست‌توده نسبت به گیاهان شاهد شده است. همچنین، مایه‌کوبی گیاهان ذرت (*Zea mays*) با *P. fluorescens* در شرایط شوری نشان داد که همزیستی با باکتری به‌دلیل افزایش جذب آب و عناصر غذایی، موجب بهبود رشد و عملکرد گردیده است (Nadeem *et al*., 2009). به‌طور مشابه Aslani و همکاران (۲۰۲۱) نیز افزایش ویژگی‌های رشدی، عملکرد، میزان کلروفیل و اسانس گیاهان مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) مایه‌کوبی شده با *P. fluorescens* را در شرایط تنش شوری نسبت به گیاهان مایه‌کوبی نشده گزارش کردند.

Serendipita indica یک قارچ اندوفیت متعلق به خانواده Sebacinaceae است که قابلیت ایجاد رابطه همزیستی با ریشه تعداد زیادی از گیاهان عالی را دارد. این قارچ توانایی‌هایی شبیه قارچ میکوریزا آربوسکولار داشته و می‌تواند باعث بهبود جذب آب و مواد غذایی، افزایش مقاومت به بیماری‌ها، تحمل به تنش‌های محیطی و ارتقاء رشد در گیاهان میزبان گردد (Khademian *et al*., 2019؛ Gill *et al*., 2016). در یک پژوهش، کاربرد قارچ‌های *S. indica* و *Trichoderma*

tomentosum سبب بهبود ویژگی‌های رشدی (ارتفاع بوته، قطر ساقه، وزن تر و خشک برگ و ساقه) و عملکرد گیاه ریحان شده است (Faghih Abdollahi *et al.*, 2015). طبق گزارش Khalvandi و همکاران (۲۰۱۹)، مایه‌کوبی گیاهان نعنا فلفلی با قارچ *S. indica*، ضمن بهبود سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه، باعث کاهش اثرهای منفی تنش شوری بر میزان اسانس شده است. در پژوهش دیگری گزارش شد که استفاده از قارچ *S. indica* در گیاه مریم‌گلی سبب افزایش ویژگی‌های رشدی و میزان اسانس گیاه در شرایط شوری گردید (Aslani *et al.*, 2021). همچنین، استفاده از قارچ *S. indica* در توت‌فرنگی (*Fragaria* × *ananassa*) سبب افزایش ویژگی‌های رشدی، بهبود ریشه‌دهی، افزایش رنگیزه‌ها، جذب مواد غذایی و زیست‌توده گیاه شده است (Liu *et al.*, 2022).

با توجه به شور شدن منابع آبی و خاکی و ایجاد محدودیت جدی برای کشت و کار در بسیاری از مناطق ایران، مطالعه کشت گیاهان دارویی همراه با کاربرد کودهای زیستی می‌تواند ضمن تأمین اهداف کشاورزی پایدار، راه حل مناسبی برای کاهش تبعات معضل شوری در بسیاری از مناطق کشور باشد. بر این اساس، این پژوهش با هدف بررسی بهره‌گیری از رابطه همزیستی قارچ *S. indica* و باکتری *Pseudomonas* در تعدیل اثرهای تنش شوری و بهبود رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه ریحان انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت یک آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، طی بهار و تابستان سال ۱۴۰۰ انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سه سطح مایه‌کوبی با ریز جانداران محرک رشد (کاربرد قارچ *Serendipita indica*، کاربرد سوسپانسیون ترکیبی از سه باکتری *Pseudomonas areuginosa*، *P. putida* و *P. fluorescens* و عدم مایه‌کوبی) و چهار سطح تنش شوری (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار نمک کلرور سدیم) اعمال شدند.

تولید و تکثیر مایه تلقیح قارچ *Serendipita indica*

قارچ *S. indica* از آزمایشگاه گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه تهیه شده و در مرحله بعد قارچ در داخل پلیت‌های حاوی محیط جامد کفر (متشکل از عناصر غذایی ماکرو و میکرو، پپتون، عصاره مخمر و نمک‌ها) کشت شد (Käfer, 1977). پلیت‌ها به مدت چهار هفته در دمای ۲۴ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری گردیده و پس از آن کمّیت و کیفیت اسپورهای تولید شده با استفاده از لام نئوبار اندازه‌گیری شد. برای مایه‌کوبی، سوسپانسیونی با غلظت ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر تهیه گردید.

تهیه مایه تلقیح ترکیبی از باکتری‌ها

سویه‌های ۱۰، ۸۳ و ۲۲ باکتری‌های *Pseudomonas areuginosa*، *P. putida* و *P. fluorescens* از آزمایشگاه گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه تهیه شده و در مراحل بعدی باکتری‌ها در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس در محیط کشت لوریا برتانی (LB) به مدت ۲۴ ساعت کشت شدند. سپس برای مایه‌کوبی، سوسپانسیونی با غلظت $۱/۶۱\times۱۰^{۹}$ سلول در هر میلی‌لیتر تهیه گردید.

تهیه بستر کاشت، مایه‌کوبی و کاشت بذر در محیط کشت

گلدان‌های مورد استفاده در این آزمایش از نوع پلاستیکی با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر بودند که هر گلدان با ۱۰/۵ کیلوگرم خاک خشک (شامل سه قسمت خاک + دو قسمت ماسه) پر شد. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

برای انجام عمل مایه‌کوبی، ضدعفونی کردن بذرهای گیاه ریحان با هیپوکلرید سدیم ۲٪ به‌مدت ۵ دقیقه انجام شد. سپس در چند مرحله به خوبی با آب استریل شستشو داده شده و برای جوانه‌زنی روی کاغذ صافی در داخل پتری‌دیش به مدت ۲ روز کشت گردید.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک آزمایشی
Table 1. Some physicochemical properties of experimental soil

Soil texture	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	N (%)	P ($mg.kg^{-1}$)	K ($mg.kg^{-1}$)	Organic matter (%)	$CaCO_3$ (%)	pH	EC ($dS.m^{-1}$)
Sandy-Loam	11.5	20	68.5	0.051	2.90	61.12	0.65	15	8.02	2.05

بذرهای جوانه زده با سوسپانسیون قارچ *S. indica* حاوی ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر مایه‌کوبی شده و برای اتصال اسپورهای قارچ به سطوح ریشه‌چه‌ها به مدت دو ساعت بر روی شیکر انکوباتور قرار گرفتند. برای تلقیح و نفوذ باکتری‌ها به پوست و شیار بذرها، آنها را با مایه تلقیح حاوی ترکیبی از باکتری‌های *P. areuginosa*، *P. putida* و *P. fluorescens* مخلوط کرده و به مدت دو ساعت بر روی شیکر انکوباتور قرار گرفتند. غلظت مخلوط باکتری‌ها $۱/۶۱\times۱۰^{۹}$ سلول در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بود.

پس از آماده کردن گلدان‌ها، در هر گلدان تعداد ۲۵ عدد بذر گیاه ریحان رقم کشکنی لولو (شاهد یا مایه‌کوبی شده با یکی از میکروارگانیسم‌ها) کاشته شد. گیاهچه‌ها پس از سبز شدن و انجام مراقبت‌های مربوط، در چندین مرحله تنک گردیدند و در نهایت تعداد ۷ عدد بوته در هر گلدان نگهداری شد. تا زمان رسیدن به مرحله هشت برگی شدن بوته‌ها (حدود یک ماه بعد از کاشت بذرها) از آب معمولی برای آبیاری گلدان‌ها استفاده شد و پس از این مرحله تیمارهای تنش شوری با حل کردن نمک کلرور سدیم در آب آبیاری در چهار سطح صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار اعمال شدند. آبیاری گلدان‌ها با آب حاوی غلظت‌های مورد نظر نمک به‌صورت یک روز در میان انجام گردید و تا زمان گلدهی کامل و برداشت بوته‌ها ادامه یافت. برای جلوگیری از شوک حاصل از شوری نمک، تیمارهای مورد نظر به‌صورت تدریجی و در سه نوبت آبیاری به غلظت نهایی مورد نظر رسیدند. همچنین، برای جلوگیری از تجمع نمک در گلدان‌ها بعد از هر سه بار آبیاری با آب شور، گلدان‌ها با آب معمولی آبیاری و آبشویی شدند. یادآوری می‌شود کمینه و بیشینه دمای گلخانه در طول مدت آزمایش به‌ترتیب ۲±۲۰ و ۲±۳۰ درجه سلسیوس و نور مورد نیاز گیاهان توسط نور طبیعی آفتاب تأمین شد. در مرحله گلدهی کامل (حدود یک ماه و نیم پس از اعمال تنش) اقدام به برداشت نمونه‌های گیاهی برای اندازه‌گیری صفات مختلف شد.

تعیین میزان کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ

یک ماه و نیم پس از اعمال تنش شوری، نمونه‌برداری از ریشه گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و گیاهان شاهد برای تعیین میزان آلودگی ریشه‌ها با قارچ توسط میکروسکوب نوری انجام شد. برای این کار، ابتدا ریشه‌ها با دقت از خاک خارج و به خوبی با آب معمولی شستشو داده شدند. سپس قطعات یک سانتی‌متری از ریشه‌ها تهیه و روی آنها هیدروکسید پتاسیم ۱۰٪ ریخته و به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از سردشدن، ریشه‌ها شسته شده و در داخل اسید هیدروکلریک ۳٪ قرار داده شدند. پس از چند دقیقه اسید را خالی کرده و روی ریشه‌ها محلول رنگی ترپان‌بلو ۰/۰۵٪ اضافه شد و به مدت نیم ساعت در دمای ۹۰ درجه سلسیوس در بن‌ماری قرار گرفت. بعد از گذشت این مدت ریشه‌ها از محلول رنگی خارج و دوباره شسته شدند و روی آنها محلول بی‌رنگ که مخلوطی از اسید لاکتیک، گلیسرول و آب به نسبت ۱:۱:۱ بود اضافه شد و ریشه‌ها برای بررسی‌های میکروسکوپی نگهداری شدند (Philips & Hayman, 1970).

ویژگی‌های رشدی گیاه

به‌منظور بررسی برخی از ویژگی‌های رشدی گیاه ریحان، در پایان آزمایش از هر واحد آزمایشی به‌صورت تصادفی سه بوته انتخاب و صفاتی مانند ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و مجموع طول شاخه‌های جانبی، طول گل‌آذین، وزن تر و خشک برگ و ساقه (توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم)، تعداد و سطح برگ (توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل AM 200) و شاخص سطح

برگ (نسبت سطح برگ به سطح زمین اشغال شده توسط گیاه) اندازه‌گیری شد. همچنین برای اندازه‌گیری وزن خشک، اندام‌های برگ و ساقه به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سلسیوس خشک گردید.

محتوی نسبی آب برگ (RWC)

برای اندازه‌گیری RWC، از پهنک برگ‌های توسعه یافته ۱۰ عدد دیسک به قطر ۸ میلی‌متر تهیه کرده و پس از توزین دیسک‌ها با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم)، آنها را به پتری‌دیش‌های دربدار حاوی آب مقطر منتقل کرده و به مدت ۴ ساعت در یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس) در تاریکی قرار داده شدند. پس از خارج کردن دیسک‌ها از آب مقطر و حذف رطوبت اضافی سطح دیسک‌ها وزن آماس آنها اندازه‌گیری شد. پس از تعیین وزن آماس، دیسک‌های برگی را به آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس منتقل کرده و پس از گذشت ۴۸ ساعت وزن خشک آنها تعیین شده و در نهایت با استفاده از فرمول زیر محتوی نسبی آب برگ‌ها محاسبه گردید (Turner, 1981).

$$RWC\ (\%) = [FW - DW\ /TW - DW] \times 100$$

که در آن RWC: محتوی نسبی آب، FW: وزن تر، DW: وزن خشک و TW: وزن آماس نمونه‌ها می‌باشد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار ۰/۵ گرم از برگ تر گیاه در هاون چینی با استون ۸۰٪ به‌صورت تدریجی سائیده شد. عصاره حاصل به لوله فالکون انتقال داده شده و حجم آن با استون ۸۰٪ به ۱۰ میلی‌لیتر رسید. محلول حاصل سانتریفیوژ شده و میزان جذب عصاره فوقانی در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل HALO DB- 20S Dynamica ساخت کشور انگلیس) قرائت گردید. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

$$\text{کلروفیل a} = ((12.7 \times A663) - (2.69 \times A645))/1000W \times V$$

$$\text{کلروفیل b} = ((22.9 \times A645) - (4.68 \times A663))/1000W \times V$$

$$\text{کلروفیل کل} = ((20.2 \times A645) - (8.02 \times A663))/1000W \times V$$

$$\text{کاروتنوئید} = (100\ (A470) - 3.27(mg\ Chl\ a) - 104\ (mg\ Chl\ b\ ))/227$$

V: حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفوژ)، A: جذب نمونه در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر و W: وزن تر نمونه برگی

عناصر غذایی برگ

به‌منظور استخراج عصاره گیاهی مورد نیاز برای اندازه‌گیری عناصر غذایی، نمونه‌های برگی خشک شده در آون، به کمک آسیاب پودر شده و در نهایت عصاره آنها با هضم به روش سوزاندن خشک تهیه شد. میزان نیتروژن به روش هضم توسط اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک و آب اکسیژنه و با استفاده از دستگاه کجدال (مدل B-324 BÜCHI ساخت کشور سوئیس) اندازه‌گیری شد (Mulvaney, 1996). میزان فسفر با استفاده از روش رنگ سنجی (رنگ زرد مولیبدات وانادات) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل HALO DB- 20S Dynamica ساخت کشور انگلیس) در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Cotteni, 1980). مقادیر پتاسیم و سدیم به روش نشر

شعله‌ای و با کمک دستگاه فلیم فتومتر (مدل Sofer Corning 400، ساخت کشور انگلیس) (Emami, 1996) و مقدار کلر به روش تیتراسیون (Johnson & Ulrich, 1975) اندازه‌گیری گردید.

استخراج و اندازه‌گیری میزان اسانس

برای استخراج و اندازه‌گیری میزان اسانس، بوته‌های ریحان در مرحله گلدهی کامل برداشت شده و در سایه در دمای اتاق خشک گردید. سپس ۱۰ گرم از برگ‌های خرد شده همراه سرشاخه‌های گلدار به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت اسانس‌گیری شد. محتوی اسانس بر حسب میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم ماده خشک و عملکرد اسانس نیز براساس حجم اسانس در وزن خشک تک بوته محاسبه و گزارش شد.

تجزیه آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورد استفاده

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد. برای انجام مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۵٪) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

درصد کلونیزاسیون ریشه

نتایج ارزیابی‌های میکروسکوپی بر روی ریشه گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* نشان داد که این قارچ توانایی بالایی در کلونیزاسیون ریشه‌های گیاه ریحان دارد، به‌طوری که اندامک‌ها و کلامیدوسپورهای گلابی شکل و گرد قارچ *S. indica* به وضوح در داخل بافت کورتکس ریشه مشاهده شد (شکل ۱). براساس نتایج حاصل از این پژوهش، میزان کلونیزاسیون ریشه گیاهان میزبان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت (جدول ۲). در شرایط بدون شوری، میزان کلونیزاسیون ریشه ۸۲/۵٪ بود، در حالی که در شوری‌های ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار، میزان کلونیزاسیون به‌ترتیب به ۵۱/۶۶، ۴۳/۳۳ و ۳۲/۵٪ کاهش یافت (شکل ۲).

شکل ۱- کلامیدوسپورهای قارچ ***Serendipita indica*** در ریشه گیاه ریحان تلقیح شده

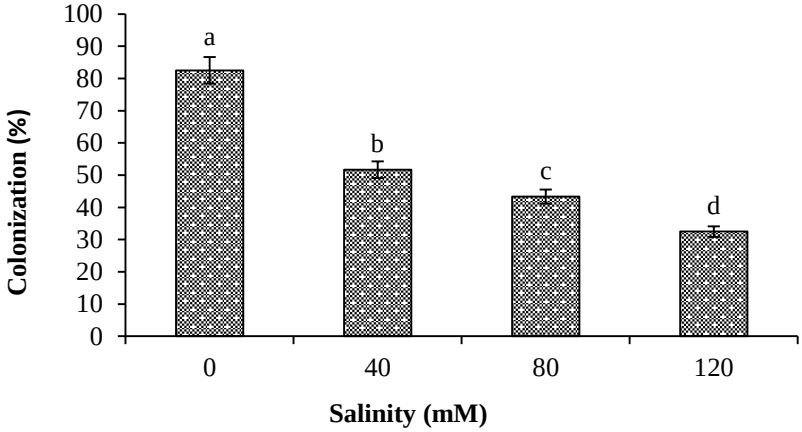
Figure 1. *Serendipita indica* chlamydospores in root cortex of inoculated *Ocimum basilicum*

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر شوری بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه ریحان تلقیح شده با قارچ ***Serendipita indica***

Table 2. ANOVA of salinity effects on colonization rate of *Ocimum basilicum* roots inoculated by *Serendipita indica*

S.O.V.	d.f.	M.S.
		Colonization rate
Salinity	3	1384.72**
Experimental error	8	0.22
C.V. (%)		0.91

**: Significant at 1% probability level.



شکل ۲- مقایسه میانگین تأثیر شوری بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه ریحان تلقیح شده با قارچ ***Serendipita indica***

Figure 2. Means comparison of salinity effects on colonization rate of *Ocimum basilicum* roots inoculated by *Serendipita indica*

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

شاخص‌های رشدی

براساس نتایج تجزیه واریانس، مایه‌کوبی با ریزجانداران محرک رشد و شوری بر تمام شاخص‌های رشدی اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌داری (در سطح ۱٪) داشتند. همچنین اثرهای متقابل این دو عامل بر کلیه شاخص‌های رشدی بجز تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ و وزن خشک ساقه معنی‌دار بود (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش غلظت شوری، تمامی صفات رشدی مورد بررسی کاهش یافتند؛ در حالی که مایه‌کوبی گیاهان با قارچ *S. indica* و باکتری باعث بهبود ویژگی‌های رشدی نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی گردید (جدول ۳). بیشترین ارتفاع بوته (۷۶/۲۷ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۴/۵۸ میلی‌متر)، تعداد شاخه‌های جانبی (۱۷/۶۶)، سطح برگ (۵۸۷/۴۵ سانتی‌مترمربع)، وزن تر و خشک برگ (به‌ترتیب ۸/۷۴ و ۱/۶۳ گرم)، وزن تر و خشک ساقه (به‌ترتیب ۱۰/۳۲ و ۲/۳۶ گرم) و شاخص سطح برگ (۳/۳۰) در شرایط بدون تنش و مایه‌کوبی با قارچ *S. indica* و کمترین ارتفاع بوته (۴۰ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۱/۹۷ میلی‌متر)، تعداد شاخه‌های جانبی (۳/۶۶)، سطح برگ (۱۸۹/۰۲ سانتی‌مترمربع)، وزن تر و خشک برگ (به‌ترتیب ۳/۲۳ و ۰/۳۸ گرم)، وزن تر ساقه (۴/۳۷ گرم) و شاخص سطح برگ (۱/۰۶) در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار تنش شوری و بدون مایه‌کوبی مشاهده شد. همچنین، بیشترین مجموع طول شاخه‌های جانبی (۹۳/۷۸ سانتی‌متر) و تعداد برگ (۸۶/۱۱) در شرایط بدون تنش و مایه‌کوبی با باکتری‌ها و کمترین مجموع طول شاخه‌های جانبی (۹/۰۷ سانتی‌متر) و تعداد برگ (۲۷/۵۵) در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار تنش شوری و بدون مایه‌کوبی بدست آمد. اگرچه تأثیر شوری بر طول گل‌آذین از روندی مشابه با سایر صفات برخوردار نبود اما در مجموع مقدار این صفت در اثر شوری کاهش نشان داد و گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری از طول گل‌آذین بیشتری نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی برخوردار بودند. به‌طور کلی براساس نتایج حاصل از این تحقیق بیشتر خصوصیات رشدی در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* از مقادیر بیشتری نسبت به گیاهان مایه‌کوبی شده با باکتری‌ها و گیاهان مایه‌کوبی نشده برخوردار بودند (جدول ۳).

محتوی نسبی آب برگ (RWC)

براساس نتایج بدست آمده، فقط اثرهای ساده تنش شوری و اثرهای متقابل تنش شوری و ریزجانداران بر محتوی نسبی

آب برگ معنی‌دار بوده است (جدول ۴). با افزایش سطح شوری، محتوی نسبی آب کاهش پیدا کرد، به‌طوری که بیشترین محتوی نسبی آب (۸۲/۵۲٪) در شرایط بدون شوری و بدون مایه‌کوبی و کمترین محتوی نسبی آب (۵۹/۰۶٪) در شرایط ۱۲۰ میلی‌مولار نمک و بدون تلقیح با ریزجانداران مشاهده گردید. با وجود کاهش محتوی نسبی آب برگ در پاسخ به افزایش سطح شوری، اختلاف بین تیمارهای مایه‌کوبی شده با ریزجانداران و تیمار بدون مایه‌کوبی فقط در بالاترین سطح شوری معنی‌دار بود. علاوه بر این، نتایج نشان داد که گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* در تمام سطوح شوری از محتوی نسبی آب بیشتری در مقایسه با گیاهان مایه‌کوبی شده با باکتری و تیمار بدون مایه‌کوبی برخوردار بودند (جدول ۴).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

براساس نتایج تجزیه واریانس، مقادیر کلروفیل a و کلروفیل کل به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح شوری و تیمار با ریزجانداران قرار گرفتند. اما محتوی کلروفیل b و کاروتنوئید فقط تحت تأثیر معنی‌دار تنش شوری قرار داشتند (جدول ۴). براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها، با افزایش تنش شوری، مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافت. بیشترین مقادیر کلروفیل a (۰/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل کل (۱/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کاروتنوئیدها (۰/۵۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطح شوری صفر و کمترین میزان کلروفیل a (۰/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۳۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل کل (۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کاروتنوئیدها (۰/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده شد. همچنین نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر مایه‌کوبی با ریزجانداران بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل نشان می‌دهد که گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌های سودوموناس از میزان کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند (جدول ۴).

درصد و عملکرد اسانس

طبق نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس، فقط اثرهای ساده تنش شوری و کاربرد ریزجانداران بر درصد و عملکرد اسانس معنی‌دار بوده است (جدول ۴). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، با افزایش غلظت نمک در آب آبیاری تا حد ۸۰ میلی‌مولار، درصد اسانس روند افزایشی داشته است اما در غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار نمک کاهش پیدا کرد. کمترین درصد اسانس (۱/۰۲٪) در شوری صفر مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با شوری ۱۲۰ میلی‌مولار (۱/۰۶٪) نداشت. همچنین درصد اسانس در گیاهان مایه‌کوبی شده با باکتری‌های سودوموناس (۱/۲۴٪) به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* (۱/۰۸٪) و گیاهان بدون مایه‌کوبی (۱/۰۵٪) بود. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳)، میزان عملکرد اسانس با افزایش سطح تنش تا شوری ۴۰ میلی‌مولار افزایش و بعد کاهش یافت. کمترین عملکرد اسانس (۰/۱۲ میلی‌لیتر در گلدان) در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار شوری دیده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح شوری داشت. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر مایه‌کوبی با ریزجانداران نیز نشان می‌دهد که عملکرد اسانس در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* (۰/۲۳ میلی‌لیتر در گلدان) و باکتری‌های سودوموناس (۰/۲۱ میلی‌لیتر در گلدان) به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان بدون مایه‌کوبی (۰/۱۷ میلی‌لیتر در گلدان) بود (جدول ۴).

جدول ۳- اثر مایه‌کوبی با ریزجانداران بر برخی ویژگی‌های رشدی ریحان تحت شوری

Table 3. Microorganisms inoculation effects on some growth parameters of *Ocimum basilicum* under salinity

NaCl (mM)	PBRM[1] inoculation	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Number of lateral branches	Total length of lateral branches (cm)	Number of leaves	Leaf area (cm^2)	Inflorescence length (cm)	Leaf fresh weight ($g.plant^{-1}$)	Leaf dry weight ($g.plant^{-1}$)	Stem fresh weight ($g.plant^{-1}$)	Stem dry weight ($g.plant^{-1}$)	Leaf area index
0	*Pseudomonas* (*P. areuginosa* + *P. putida* + *P. fluorescens*)	71.05^{b}	3.58^{b}	17.44	93.78^{a}	86.11	533.08^{b}	14.66^{a}	8.69	1.49	8.33^{b}	1.62	2.99^{b}
40		63.50^{c}	3.34^{bc}	16.00	71.32^{b}	81.00	377.63^{e}	12.88^{a-c}	7.51	1.33	7.38^{bc}	1.65	2.12^{e}
80		57.16^{d}	2.86^{de}	11.22	43.39^{c}	49.00	356.51^{f}	8.55^{de}	5.08	1.03	5.74^{de}	1.15	2.00^{f}
120		51.44^{fg}	2.77^{e}	7.88	22.35^{e}	35.88	327.29^{g}	8.58^{de}	4.14	0.69	5.13^{ef}	1.06	1.83^{g}
0	*Serendipita indica*	76.27^{a}	4.58^{a}	17.66	90.21^{a}	85.11	587.45^{a}	11.50^{bc}	8.74	1.63	10.32^{a}	2.36	3.30^{a}
40		64.83^{c}	3.60^{b}	14.66	76.71^{b}	78.00	459.74^{c}	13.33^{ab}	8.36	1.43	9.92^{a}	2.29	2.58^{c}
80		56.16^{de}	3.41^{b}	8.66	47.62c	54.44	438.47^{d}	11.16^{c}	6.94	1.21	6.49^{cd}	1.41	2.46^{d}
120		48.16^{gh}	2.98^{c-e}	6.33	23.50^{de}	36.44	347.71^{f}	7.00^{e}	4.68	0.70	5.85^{de}	1.26	1.95^{f}
0	Control	63^{c}	3.50^{b}	16.33	42.45^{c}	72.44	374.99^{e}	13.05^{ab}	7.16	1.43	8.05^{b}	1.73	2.10^{e}
40		53.66^{ef}	3.21^{b-d}	11.33	35.20^{cd}	64.77	239.23^{h}	7.22^{e}	7.05	1.25	5.85^{de}	1.45	1.34^{h}
80		48^{h}	2.66^{e}	6.00	21.38^{ef}	51.11	236.10^{h}	9.16^{d}	5.05	1.02	5.35^{d-f}	1.27	1.32^{h}
120		40^{i}	1.97^{f}	3.66	9.07^{f}	27.55	189.02^{i}	7.38^{de}	3.23	0.38	4.37^{f}	1.07	1.06^{i}
NaCl													
0		70.11	3.89	17.14^{a}	75.48	81.22^{a}	498.50	13.07	8.19^{a}	1.52^{a}	8.90	1.90^{a}	2.80
40		60.66	3.38	14.00^{b}	61.08	74.59^{a}	358.86	11.14	7.64^{a}	1.34^{b}	7.71	1.80^{a}	2.01
80		53.77	2.98	8.62^{c}	37.47	51.51^{b}	343.69	9.62	5.69^{b}	1.09^{c}	5.86	1.27^{b}	1.93
120		46.53	2.57	5.96^{d}	18.31	33.29^{c}	288.00	7.65	4.01^{c}	0.59^{d}	5.12	1.13^{b}	1.61
PBRM inoculation													
Pseudomonas		60.79	3.14	13.13^{a}	57.71	63.00^{a}	398.62	11.17	6.35^{b}	1.14^{b}	6.64	1.37^{b}	2.23
S. indica		61.36	3.64	11.83^{b}	59.51	63.50^{a}	458.34	10.75	7.18^{a}	1.24^{a}	8.15	1.83^{a}	2.57
Control		51.16	2.83	9.33^{c}	27.03	53.97^{b}	259.83	9.20	5.62^{c}	1.02^{c}	5.90	1.38^{b}	1.45
Salinity (S)		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Microorganism (M)		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
S × M		*	*	ns	**	ns	**	**	ns	ns	*	ns	**

PBRM: Plant beneficial rhizospheric microorganism; ns, *, and **: non-significant, significant at 1%, and 5% probability levels, respectively; In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

جدول ۴- اثر مایه‌کوبی با ریزجانداران بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و میزان اسانس ریحان تحت شوری

Table 4. Microorganisms inoculation effects on some physiological parameters and essential oil content of *Ocimum basilicum* under salinity

NaCl (mM)	PBRM inoculation	RWC (%)	Chlorophyll *a* (mg.g^{-1} FW)	Chlorophyll *b* (mg.g^{-1} FW)	Total Chlorophyll (mg.g^{-1} FW)	Carotenoids content (mg g^{-1} FW)	Essential oil content (%)	Essential oil yield (ml.pot^{-1})
0	*Pseudomonas* (*P. areuginosa* + *P. putida* + *P. fluorescens*)	77.36^{a-c}	0.97	0.42	1.40	0.56	1.11	0.24
40		74.45^{b-e}	0.86	0.41	1.28	0.55	1.26	0.26
80		72.02^{c-e}	0.87	0.39	1.26	0.49	1.39	0.21
120		67.98^{e}	0.76	0.42	1.18	0.46	1.22	0.15
0	*Serendipita indica*	81.17^{ab}	0.92	0.40	1.32	0.57	0.98	0.27
40		74.96^{a-e}	0.96	0.44	1.40	0.61	1.13	0.29
80		73.03^{c-e}	0.69	0.37	1.06	0.46	1.20	0.22
120		68.73^{de}	0.62	0.31	0.93	0.44	1.00	0.13
0	Control	82.52^{a}	0.94	0.41	1.36	0.61	0.96	0.21
40		76.73^{a-d}	0.76	0.38	1.15	0.50	1.22	0.23
80		71.27^{c-e}	0.68	0.38	1.06	0.51	1.06	0.17
120		59.06^{f}	0.59	0.29	0.88	0.47	0.96	0.09
NaCl								
0		80.35	0.94^{a}	0.41^{a}	1.36^{a}	0.58^{a}	1.02^{b}	0.24^{a}
40		75.38	0.86^{a}	0.41^{a}	1.28^{ab}	0.55^{ab}	1.20^{a}	0.26^{a}
80		72.11	0.75^{b}	0.38^{ab}	1.13^{bc}	0.49^{bc}	1.21^{a}	0.20^{b}
120		65.25	0.66^{b}	0.34^{b}	1.00^{c}	0.46^{c}	1.06^{b}	0.12^{c}
PBRM inoculation								
Pseudomonas		72.95	0.87^{a}	0.41	1.28^{a}	0.51	1.24^{a}	0.21^{a}
S. indica		74.47	0.79^{ab}	0.38	1.18^{ab}	0.52	1.08^{b}	0.23^{a}
Control		72.39	0.74^{b}	0.37	1.11^{b}	0.52	1.05^{b}	0.17^{b}
Salinity (S)		**	**	**	**	**	**	**
Microorganism (M)		ns	*	ns	*	ns	**	**
S × M		*	ns	ns	ns	ns	ns	ns

PBRM: Plant beneficial rhizospheric microorganism; ^{ns}, *, and **: non-significant, significant at 1, and 5% probability levels, respectively; In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

عناصر غذایی برگ

سدیم

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان سدیم برگ به‌طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۱٪) تحت تأثیر سطوح شوری، مایه‌کوبی با ریزجانداران و اثر متقابل این دو عامل قرار گرفت (جدول ۵). براساس نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرهای متقابل ریزجانداران و شوری، با افزایش سطوح شوری، میزان سدیم برگ افزایش یافت، به‌طوری که بیشترین مقدار سدیم برگ (۳/۹۱٪) در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار شوری و بدون مایه‌کوبی و کمترین مقدار آن (۰/۳۳٪) در تیمارهای بدون شوری و مایه‌کوبی شده با باکتری و قارچ *S. indica* دیده شد. همچنین در تمام

سطوح شوری، گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌ها از میزان سدیم کمتری نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی برخوردار بودند (جدول ۵).

پتاسیم

براساس نتایج تجزیه واریانس، تنها اثرهای ساده تنش شوری و کاربرد ریزجانداران بر میزان پتاسیم برگ معنی‌داری بود (جدول ۵). نتایج این تحقیق نشان داد با افزایش غلظت نمک در آب آبیاری، میزان پتاسیم کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین (۶/۳۳٪) و کمترین (۳/۲۸٪) مقدار پتاسیم، به‌ترتیب در شوری صفر و ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده شد. همچنین با وجود این که میزان پتاسیم در پاسخ به تنش شوری کاهش یافت، اما گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌ها نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی از میزان پتاسیم بیشتری برخوردار بودند.

نسبت پتاسیم به سدیم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نسبت پتاسیم به سدیم به‌طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۱٪) تحت تأثیر شوری، مایه‌کوبی با ریزجاندارن و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد اگرچه با افزایش سطوح شوری، نسبت پتاسیم به سدیم در تمامی تیمارها کاهش یافت، اما با این حال گیاهان مایه‌کوبی شده با باکتری‌های سودوموناس، نسبت پتاسیم به سدیم بالاتری نسبت به گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و گیاهان مایه‌کوبی نشده داشتند (جدول ۵).

جدول ۵- اثر مایه‌کوبی با ریزجانداران بر میزان عناصر برگ ریحان تحت شوری

Table 5. Microorganisms inoculation effects on leaf nutrients content of *Ocimum basilicum* under salinity

NaCl (mM)	PBRM inoculation	Na (%)	K (%)	K/Na	Cl (%)	P (%)	N (%)
0	*Pseudomonas* (*P. areuginosa* + *P. putida* + *P. fluorescens*)	0.33^{h}	7.32	22.15^{a}	2.25	0.34	1.38
40		0.39^{h}	4.84	12.40b	3.04	0.28	1.33
80		1.16^{e}	4.75	4.09^{ef}	3.71	0.28	1.22
120		3.47^{b}	3.68	1.06^{f}	4.16	0.25	1.21
0	*Serendipita indica*	0.33^{h}	5.79	17.54^{a}	2.25	0.31	1.59
40		0.47^{gh}	5.08	10.81^{bc}	2.64	0.27	1.49
80		1.66^{d}	3.97	2.39^{ef}	3.26	0.24	1.20
120		3.16^{c}	3.22	1.02^{f}	3.55	0.22	1.14
0	Control	0.67^{fg}	5.87	8.76^{cd}	2.87	0.31	1.34
40		0.69^{f}	3.97	5.71^{de}	3.09	0.26	1.31
80		3.47^{b}	3.10	0.89^{f}	4.22	0.20	0.97
120		3.91^{a}	2.93	0.75^{f}	4.84	0.18	0.94
NaCl							
0		0.44	6.33^{a}	16.59	2.46^{b}	0.32^{a}	1.44
40		0.51	4.63^{b}	9.89	2.93^{b}	0.27^{ab}	1.38
80		2.10	3.94^{bc}	2.46	3.73^{a}	0.24^{b}	1.13
120		3.51	3.28^{c}	0.94	4.18^{a}	0.22^{b}	1.10
PBRM inoculation							
Pseudomonas		1.34	5.15^{a}	10.05	3.29^{b}	0.29	1.29
S. indica		1.41	4.52^{ab}	8.28	2.93^{b}	0.26	1.36
Control		2.18	3.97^{b}	4.07	3.76^{a}	0.24	1.14
Salinity (S)		**	**	**	**	*	ns
Microorganism (M)		**	*	**	**	ns	ns
S × M		**	ns	**	ns	ns	ns

PBRM: Plant beneficial rhizospheric microorganism; ^{ns}, *, and **: non-significant, significant at 1, and 5% probability levels, respectively; In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

کلر

میزان کلر برگ به‌طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۱٪) تحت تأثیر شوری و مایه‌کوبی با ریزجانداران قرار گرفت (جدول ۵). براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، میزان انباشت کلر در برگ با افزایش شدت تنش افزایش یافت. بیشترین مقدار انباشت کلر (۴/۱۸٪) در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار شوری و کمترین انباشت آن (۲/۴۶٪) در تیمار بدون شوری مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که میزان انباشت کلر در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌ها به‌طور معنی‌داری کمتر از گیاهان بدون مایه‌کوبی بود (جدول ۵).

فسفر

طبق نتایج تجزیه واریانس، فقط اثر تنش شوری بر مقدار فسفر برگ در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار گردید (جدول ۵). بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت شوری میزان فسفر برگ‌ها کاهش یافت. بیشترین (۰/۳۲٪) و کمترین (۰/۲۲٪) مقدار فسفر، به‌ترتیب در تیمارهای بدون شوری و شوری ۱۲۰ میلی‌مولار بدست آمد.

نیتروژن

اگرچه طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر شوری و مایه کوبی با ریزجانداران بر میزان نیتروژن برگ معنی دار نبود اما با این حال نتایج مؤید کاهش میزان نیتروژن در اثر افزایش شدت شوری بود. به‌علاوه در تمام سطوح شوری، میزان نیتروژن در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌ها نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی بیشتر بود (جدول ۵).

بحث

در این تحقیق مشاهده شد که میزان کلونیزاسیون ریشه گیاهان ریحان، تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفته و با افزایش شوری میزان کلونیزاسیون کاهش پیدا کرد. در تأیید نتیجه این پژوهش، میزان درصد کلونیزاسیون در گیاهان مختلفی ازجمله نعنا فلفلی (Khalvandi *et al*., 2019)، گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) (Ghorbani *et al*., 2018a) و مریم‌گلی (Aslani *et al*., 2021) در شرایط تنش شوری کاهش معنی‌داری داشتند. کاهش میزان کلونیزاسیون در اثر تنش شوری را می‌توان به کاهش فتوسنتز و کاهش کربوهیدرات عرضه شده توسط گیاه برای رشد قارچ *S. indica* نسبت داد. همچنین، اثرهای سمّی و بازدارنده یونی یا تنش اسمزی ناشی از غلظت بالای سدیم و کلر را می‌توان مانعی برای رشد ریسه‌های قارچ دانست (McMillen *et al*., 1998؛ Enteshari & Hajbagheri, 2011).

طبق نتایج این تحقیق، تنش شوری بر مؤلفه‌های رشدی گیاه ریحان تأثیرگذار بود، به‌طوری که با افزایش غلظت نمک تمامی صفات رشدی مورد بررسی کاهش پیدا کردند. در تأیید یافته‌های این پژوهش، کاهش خصوصیات رشدی و عملکرد در گیاهان دارویی دیگری مانند نعنا فلفلی (Coban & Baydar, 2016)، اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) (Chrysargyris *et al*., 2018)، آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) و آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) (Emami Bistgani *et al*., 2019)، شمعدانی (Hassanvand *et al*., 2019)، مریم‌گلی (Aslani *et al*., 2021)، بادرشبو (Esmaielpour *et al*., 2020)، ریحان (Farsaraei *et al*., 2020) و مرزنجوش (Azimzadeh *et al*., 2021) گزارش شده است. تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مهمترین واکنش گیاهان به شوری، کاهش رشد است که سازوکاری برای حفظ بقای گیاه در شرایط تنش به حساب می‌آید (Seraj *et al*., 2016). با افزایش غلظت املاح در اثر تنش شوری، فشار اسمزی در خاک افزایش یافته و انرژی آزاد آب کاهش می‌یابد که نتیجه آن صرف انرژی بیشتر برای جذب مقدار مشخصی آب از خاک توسط گیاه می‌باشد؛ در واقع شوری

انرژی لازم برای حفظ شرایط طبیعی را در گیاه افزایش داده و در نهایت مقدار انرژی کمتری برای نیازهای رشدی گیاه باقی می‌ماند، در نتیجه میزان رشد عمومی گیاه کاهش پیدا می‌کند (Balasubramaniam *et al*., 2023). همچنین، با کاهش جذب آب توسط ریشه‌ها تولید اسید آبسیزیک در آنها افزایش یافته و با انتقال آنها به بخش‌های هوایی گیاه از طریق آوند چوبی سبب بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز و کاهش رشد گیاه می‌شود (Homaei, 2002؛ Talaat *et al*., 2015). افزایش غلظت نمک در برگ‌های مسن باعث سرعت گرفتن مرگ سلولی شده و در نتیجه انتقال مواد فتوسنتزی، کربوهیدرات‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد به نواحی مریستمی کاهش یافته و باعث تجمع آنها در برگ‌ها شده و رشد، وزن تر و خشک گیاه کاهش پیدا می‌کند. در کل تنش شوری به‌دلیل کاهش فتوسنتز ناشی از بسته شدن روزنه‌ها و کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاهش جذب و نگهداری آب و عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، سمّیت یونی و تجمع یون سدیم در سلول‌ها، محدودیت در جذب کربن به دلیل سمّیت یونی و کاهش کربوهیدرات تولیدی باعث کاهش رشد می‌شود (Ashraf, 2004؛ Acosta-Motos *et al*., 2017؛ Emami Azimzadeh ؛Aslani *et al*., 2021؛ Bistgani *et al*., 2019 *et al*., 2021). نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که مایه‌کوبی گیاه ریحان با ریزجانداران محرک رشد به‌ویژه قارچ *S. indica* سبب بهبود صفات رشدی نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی در هر دو شرایط تنش و بدون تنش گردید. مشابه نتایج این پژوهش، اثرهای مفید مایه‌کوبی با قارچ *S. indica* بر خصوصیات رشدی گیاهان مختلف، توسط سایر محققان (Jogawat *et al*., 2013؛ Seraj *et al*., 2016؛ Khalvandi *et al*., 2017a؛ Keramati *et al*., 2018a؛ Aslani *et al*., 2021) نیز گزارش شده است. اثرهای مثبت همزیستی با قارچ می‌تواند ناشی از بهبود وضعیت آبی و فتوسنتزی گیاه (Ghorbani *et al*., 2018b)، افزایش تولید هورمون اکسین (Lee *et al*., 2011)، افزایش رشد و تکثیر ریشه‌ها (Sirrenberg *et al*., 2007)، افزایش جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه بهبود جذب فسفر (Evelin *et al*., 2009) باشد که در نهایت به افزایش تولید کربوهیدرات‌ها و مواد ذخیره‌ای و در نتیجه بهبود رشد و عملکرد گیاه منجر می‌گردد. تأثیر مثبت مایه‌کوبی با باکتری‌ها بر ویژگی‌های رشدی گیاه ریحان که در این تحقیق مشاهده شد توسط Nadeem و همکاران (۲۰۰۹) در ذرت، Mohamed و Gomma (۲۰۱۲) در تربچه (*Raphanus sativus*) و Aslani و همکاران (۲۰۲۱) در مریم‌گلی نیز گزارش شده است. در واقع باکتری‌های محرک رشد با سازوکارهای مختلفی ازجمله توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه، تحریک تولید هورمون‌های اکسین و سیتوکینین و ممانعت از تولید اتیلن (Egamberdieva, 2009)، تسهیل جذب آب و مواد غذایی توسط گیاه (Yang *et al*., 2009)، محدود کردن جذب یون‌های سمّی (سدیم و کلر) (Mohamed & Gomma, 2012)، تثبیت نیتروژن و تولید ویتامین‌ها و به‌صورت غیرمستقیم از طریق تولید آنزیم‌های هضم‌کننده دیواره سلولی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده (Naseem & Bano, 2014) سبب افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش می‌شوند.

براساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، محتوی نسبی آب برگ در پاسخ به تنش شوری کاهش یافت، در حالی که مایه‌کوبی با ریزجاندارن محرک رشد باعث افزایش این صفت گردید. در تأیید نتایج این پژوهش، کاهش محتوی نسبی آب در آویشن باغی و آویشن دنایی (Emami Bistgani *et al*., 2019)، شمعدانی (Hassanvand *et al*., 2019)، بادرشبو (Esmaielpour *et al*., 2020)، مرزنجوش (Azimzadeh *et al*., 2021) و شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) (Arvin & Firouzeh, 2022) در شرایط تنش شوری گزارش شده است. در واقع کاهش محتوی نسبی آب یک پاسخ

عمومی به شرایط تنش اسمزی ناشی از شوری است که می‌تواند با کاهش آب مصرفی گیاه در نتیجه کاهش ظرفیت آب محیط ریشه و کاهش توان گیاه در جذب آب، افزایش مقاومت در مسیر جریان آب در داخل گیاه و یا افزایش مقاومت روزنه‌ای و کاهش تعرق مرتبط باشد (Heidari Sharif Abad, 2001). به‌علاوه با ضعیف شدن سیستم ریشه‌ای در شرایط تنش و کاهش سطح جذب، گیاه قادر به جبران آب از دست رفته بر اثر تعرق نخواهد بود (Farkhondeh *et al*., 2012). از سوی دیگر، نقش مثبت مایه‌کوبی با قارچ *S. indica* (Keramati *et al*., 2017؛ Khalvandi *et al*., 2017b) و باکتری سودوموناس (Bazyar *et al*., 2017؛ Aslani *et al*., 2021) در افزایش محتوی نسبی آب در شرایط تنش شوری تأیید شده است. افزایش محتوی نسبی آب در گیاهان مایه‌کوبی شده با ریزجانداران محرک رشد را می‌توان به سازوکار قدرتمند آنها در تنظیم اسمزی (Akbari *et al*., 2021؛ Rajkumar *et al*., 2017)، توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و افزایش سطح جذبی ریشه‌ها، افزایش کارآیی مصرف آب و بهبود روابط آبی گیاه (Yang *et al*., 2009؛ Egamberdieva, 2009؛ Khalvandi *et al*., 2017a) نسبت داد.

کلروفیل یکی از اجزای مهم سیستم فتوسنتزی است که مقدار آن به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم فیزیولوژیک تحمل به تنش شوری در گیاهان ارزیابی می‌شود. در این پژوهش با افزایش سطح شوری، مقادیر رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئیدها) کاهش یافت. کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش شوری توسط Lamian و همکاران (۲۰۱۵) در ترخون، Emami Bistgani و همکاران (۲۰۱۹) در آویشن باغی و دنایی، Farsaraei و همکاران (۲۰۲۰) در ریحان، Esmaielpour و همکاران (۲۰۲۰) در بادرشبو و Azimzadeh و همکاران (۲۰۲۱) در مرزنجوش نیز گزارش شده است که نتایج این تحقیق را مورد تأیید قرار می‌دهند. کاهش میزان کلروفیل بر اثر تنش شوری می‌تواند به دلیل تحریک فعالیت آنزیم کلروفیلاز (Emami Bistgani *et al*., 2019)، کاهش فعالیت آنزیم آمینو لوولینیک اسید سنتاز (یکی از آنزیم‌های مهم در مسیر بیوسنتزی کلروفیل) (Santos, 2004)، اکسیداسیون و تجزیه آنها به دلیل افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Heidari, 2012) و اختلال در جذب عناصر شرکت‌کننده در ساختار کلروفیل (مانند آهن و منیزیوم) (Munns, 2002) باشد. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌های سودوموناس از میزان کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان مایه‌کوبی نشده برخوردار بودند. براساس مطالعات قبلی، ریزجانداران محرک رشد می‌توانند محتوی کلروفیل را در شرایط تنش شوری با بهبود وضعیت آبی گیاه (Ghorbani *et al*., 2018b)، افزایش جذب عناصر غذایی مانند آهن (Dell'Amico *et al*., 2008)، نیتروژن (Mohamed & Gomma, 2012؛ Aslani *et al*., 2021)، فسفر و منیزیوم (Kadian *et al*., 2013) و تحریک سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی برای مهار گونه‌های فعال اکسیژن (Ghorbani *et al*., 2018a) حفظ کنند. طبق گزارش محققان، افزایش مقدار اتیلن برگ در اثر شوری باعث تحریک فعالیت آنزیم کلروفیلاز و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد (Parida *et al*., 2004). در همین راستا، Mohamed و Gomma (۲۰۱۲)، با مایه‌کوبی گیاه تربچه توسط باکتری *P. fluorescens* در شرایط شوری بیان کردند که این باکتری احتمالاً از طریق افزایش فعالیت آنزیم ACC دآمیناز و کاهش سنتز اتیلن باعث کندشدن روند تخریب و تجزیه کلروفیل در اثر شوری می‌گردد. بدیهی است که محتوی کلروفیل بیشتر در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌های سودوموناس می‌تواند فعالیت فتوسنتزی گیاه ریحان را بهبود بخشیده و از کاهش رشد و عملکرد آن در شرایط تنش شوری جلوگیری کند.

براساس نتایج این تحقیق، درصد اسانس با افزایش شوری تا حد ۸۰ میلی‌مولار افزایش یافته و بعد کاهش پیدا کرد. در گیاهان دارویی و معطر، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها به‌طور جدی تحت تأثیر شرایط محیطی ازجمله تنش شوری قرار می‌گیرد (Ben Taarit *et al*., 2009). با توجه به ژنوتیپ گیاهی، شدت و مدت تنش شوری، تولید متابولیت‌های ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش یابد، یا حتی بدون تغییر باقی بماند. در تأیید یافته‌های این تحقیق، Ben Taarit و همکاران (۲۰۰۹) در مریم‌گلی، Salimi و همکاران (۲۰۱۷) در بومادران، Gohari و همکاران (۲۰۲۰) و Esmaielpour و همکاران (۲۰۲۰) در بادرشبو، Farsaraei و همکاران (۲۰۲۰) در ریحان و Ebrahimi و همکاران (۲۰۲۱) در مرزنجوش نیز افزایش محتوی اسانس را در اثر تنش شوری مشاهده کرده‌اند. این در حالی است که Çoban و Baydar (۲۰۱۶) در نعنا فلفلی و Aslani و همکاران (۲۰۲۱) در مریم‌گلی، کاهش محتوی اسانس را تحت تأثیر شوری گزارش کردند. در مورد عملکرد اسانس نیز مشاهده شد که مقدار این صفت در سطوح بالای شوری کاهش معنی‌داری نسبت به شرایط بدون تنش داشت. عملکرد اسانس متأثر از دو مؤلفه درصد اسانس و عملکرد پیکر رویشی گیاه می‌باشد. کاهش عملکرد اسانس در نتیجه شوری که در این تحقیق مشاهده گردید ممکن است ناشی از اثر زیان‌آور تنش بر رشد و عملکرد پیکر رویشی گیاه باشد. El-Keltawi و Croteau (۱۹۸۷) بیان کردند که محدودشدن عرضه سیتوکینین توسط ریشه‌ها به شاخساره‌ها و به‌دنبال آن تغییر نسبت سیتوکینین به اسید آبسیزیک برگ ممکن است عامل کاهش عملکرد اسانس در شرایط شوری باشد. در تحقیقات مشابهی، Azimzadeh و همکاران (۲۰۲۱) در مرزنجوش و Aslani و همکاران (۲۰۲۱) در مریم‌گلی، کاهش عملکرد اسانس را در پاسخ به تنش شوری گزارش کرده‌اند. نتایج این تحقیق همچنین مؤید افزایش درصد و عملکرد اسانس در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌های سودوموناس نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی بود. به‌نظر می‌رسد که افزایش تولید اسانس در گیاهان مایه‌کوبی شده با ریزجانداران اندوفیت به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر (Kapoor *et al*., 2017) و افزایش تشکیل کرک‌های غده‌ای (Zolfaghari *et al*., 2013) باشد. در همین راستا، Khalvandi و همکاران (۲۰۱۹) ضمن گزارش افزایش تولید اسانس در شرایط شوری در گیاهان نعنا فلفلی مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* اظهار داشتند که ریزجانداران اندوفیت باعث افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر از طریق افزایش تولید اکسین، سیتوکینین و فعالیت آنزیم فسفاتاز شده، در نتیجه NADPH و ATP مورد نیاز برای بیوسنتز ترکیب‌های ترپنوئیدی موجود در اسانس‌ها را تأمین می‌کنند. مشابه نتایج این تحقیق، تأثیر مثبت مایه‌کوبی با باکتری‌های ریزوسفری بر میزان اسانس در گیاهان نعنا (Bharti *et al*., 2014) و رزماری (*Rosmarinus officinalis*) (Dehghani Bidgoli *et al*., 2019) نیز گزارش شده است. همچنین، طبق اظهار Ghorbanpour و همکاران (۲۰۱۴)، باکتری‌های *P. fluorescens* و *P. putida* با تولید هورمون‌ها به‌عنوان محرک و افزایش تراکم کرک‌های ترشحی اسانس سبب افزایش تولید اسانس در گیاهان مریم‌گلی می‌شوند.

از دیگر نتایج این تحقیق، تغییر غلظت عناصر غذایی برگ در پاسخ به تنش شوری بود. افزایش غلظت یون‌های سدیم و کلر و کاهش پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در برگ‌های ریحان در اثر تنش شوری که در این تحقیق مشاهده شد در سایر گیاهان دارویی مانند رازیانه (Ashraf & Akhtar, 2004)، شمعدانی (Hassanvand *et al*., 2019)، کنجد (Khademian *et al*., 2019)، آویشن (Emami Bistgani *et al*., 2019) و مرزنجوش (Azimzadeh *et al*., 2021) نیز گزارش شده است. شوری ناشی از غلظت بالای یون سدیم برای سوخت و ساز سلولی سمّی بوده و بر فعالیت آنزیم‌های مرتبط با جذب و آسیمیلاسیون برخی عناصر غذایی تأثیرگذار است. افزایش

غلظت سدیم همچنین باعث اختلال در تعادل اسمزی، برهم زدن هموستازی یونی درون سلولی، اختلال در عملکرد غشاءها، تضعیف فعالیت‌های متابولیکی، ممانعت از تقسیم سلولی و کاهش رشد می‌گردد (Siddiqui *et al*., 2012؛ Hassanvand *et al*., 2019). تجمع یون‌های سدیم در سیتوسول به دلیل کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و نیز مهار فعالیت آنزیم روبیسکو در طول چرخه کالوین، بر فرایند فتوسنتز اثر منفی گذاشته و در نهایت باعث کاهش تجمع ماده خشک در گیاه می‌گردد (Parida & Das, 2005). از آنجایی که جذب یون‌های سدیم و پتاسیم به‌وسیله سیستم‌های انتقالی یکسانی انجام می‌شود، ازاین‌رو، این دو یون برای ورود به داخل سلول معمولاً با یکدیگر رقابت می‌کنند. بنابراین بالابودن غلظت سدیم به‌دلیل رقابت برای کانال‌های غشای پلاسمایی ممکن است از جذب پتاسیم ممانعت کرده و منجر به کاهش نسبت پتاسیم به سدیم گردد (Zeng *et al*., 2013). پتاسیم ظرفیت اسمزی لازم را برای جذب آب توسط سلول‌های گیاهی فراهم می‌کند، بنابراین جذب آن برای تورژسانس سلولی و حفظ فرایندهای بیوشیمیایی در شرایط شوری حیاتی است (Kaydan *et al*., 2007). بر همین مبنا، بالابودن نسبت پتاسیم به سدیم به‌عنوان یکی از معیارهای مهم انتخاب گیاهان برای تحمل به نمک در نظر گرفته شده است (Ashraf, 2004). طبق گزارش Archangi و Khodambashi (۲۰۱۴) حفظ نسبت‌های بالاتر K/Na می‌تواند یکی از مؤلفه‌های مهم تحمل به شوری در توده‌های ریحان باشد. کاهش غلظت نیتروژن و فسفر در برگ ریحان در پاسخ به افزایش غلظت نمک در آب آبیاری از دیگر نتایج این تحقیق بود. در تحقیقات مشابه، غلظت نیتروژن و فسفر در اثر شوری در کنجد (Khademian *et al*., 2019)، مرزنجوش (Azimzadeh *et al*., 2021) و مریم‌گلی (Aslani *et al*., 2021) نیز کاهش یافته است. کاهش جذب نیتروژن توسط گیاه در محیط شور احتمالاً به‌دلیل اثر رقابتی یون‌های نمک با یون‌های NO_3^- و NH_4^+، اختلال در بارگیری یون‌های نیتروژن در آوندهای چوبی ریشه، کاهش جذب آب به دلیل تغییرات اسمزی در منطقه ریشه، کاهش میزان تعرق، آسیب در ساختار غشای ریشه و تقاضای نیتروژن کمتر به دلیل کاهش میزان رشد گیاهان باشد (Hu & Schmidhalter, 2005). همچنین، تنش شوری سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های H^+-ATP*ase* و نیترات ردوکتاز شده و آسیمیلاسیون نیتروژن را مختل می‌کند (Yu *et al*., 2016). به‌دلیل مشابه بودن فرایند جذب فسفر و کلر، با افزایش جذب کلر در شرایط شوری ناشی از کلرور سدیم، قابلیت جذب فسفر توسط گیاه کاهش پیدا می‌کند (Jindal *et al*., 1993). به‌علاوه در اثر شوری، رشد و گسترش ریشه گیاهان محدود می‌شود، ازاین‌رو با توجه به اینکه فسفر یک عنصر غیرمتحرک در خاک است میزان جذب این عنصر توسط گیاه به شدت کاهش می‌یابد (Rasouli-Sadaghiani *et al*., 2019). بررسی داده‌های این پژوهش بیانگر آن است که در تمام سطوح شوری کلرور سدیم، گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* و باکتری‌های سودوموناس از میزان نیتروژن، فسفر، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم بیشتر و میزان کلر و سدیم کمتری نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی برخوردار بودند. در تحقیق مشابهی، مایه‌کوبی گیاه کنجد با قارچ *S. indica* و باکتری *Azospirillum lipoferum*، موجب کاهش معنی‌دار سدیم و افزایش پتاسیم، فسفر و نیتروژن گردید. افزایش جذب مواد مغذی در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ‌های اندوفیتی و باکتری‌های محرک رشد به تولید هورمون‌های گیاهی توسط ریزجانداران در محل اتصال به ریشه نسبت داده شده است که می‌تواند باعث بهبود تشکیل ریشه و جذب بیشتر عناصر غذایی و آب از خاک شود (Khademian *et al*., 2019). افزایش تحمل به تنش شوری در اثر همزیستی با ریزجانداران، به جذب انتخابی یون‌ها و کاهش انباشت یون‌های مضر در بافت‌های گیاهی نسبت داده می‌شود. قارچ‌های مفید می‌توانند با انباشت یون‌های سدیم در وزیکول‌ها، در داخل واکوئول سلول‌های ریشه و یا در هیف‌های قارچی داخل ریشه از انتقال یون‌های سدیم از ریشه به

شاخساره ممانعت کنند (Hammer *et al*., 2011؛ Evelin *et al*., 2013). Khalvandi و همکاران (۲۰۱۷b) در نعنا فلفلی و Aslani و همکاران (۲۰۲۱) در مریم‌گلی، تخفیف آثار شوری در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *S. indica* را به افزایش جذب فسفر و پتاسیم و کاهش تجمع سدیم در برگ نسبت دادند. همچنین طبق گزارش Khademian و همکاران (۲۰۱۹)، بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه از نظر عناصر نیتروژن و فسفر به تأثیر قارچ *S. indica* در بهبود آسیمیلاسیون نیتروژن و فسفر به‌ترتیب از طریق افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و ناقلان فسفات مربوط می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهند که باکتری‌های محرک رشد نیز می‌توانند اثرهای تنش شوری بر گیاهان را با افزایش فراهمی زیستی عناصر غذایی (از طریق افزایش قابلیت انحلال آنها) و یا با افزایش جذب آنها (از طریق تحریک تولید اکسین و توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه) تعدیل کنند (Meena *et al*., 2010). بنابر اظهار Bano و Fatima (۲۰۰۹) در ذرت و Aslani و همکاران (۲۰۲۱) در مریم‌گلی، افزایش انحلال‌پذیری فسفر و بهبود جذب عناصر پتاسیم و نیتروژن در گیاهان مایه‌کوبی شده با باکتری *Pseudomonas* موجب تعدیل اثرهای تنش شوری و بهبود رشد و نمو گیاه در این شرایط شده است. کاهش جذب یون‌های نمک از دیگر سازوکارهای تعدیل اثرهای مضر تنش شوری توسط باکتری‌ها می‌باشد. در همین راستا، Ashraf و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که اگزوپلی‌ساکاریدهای ترشح شده توسط باکتری می‌تواند در ناحیه ریشه با کاتیون‌ها (به ویژه سدیم) باند شده و مانع انتقال آن به برگ‌ها و کمک به تعدیل اثرهای شوری در گیاه گردد.

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری از طریق کاهش جذب آب و عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش انباشت یون‌های مضر نمک سبب کاهش ویژگی‌های رشدی و عملکرد اسانس در گیاه ریحان شد. با وجوداین، مایه‌کوبی با قارچ *S. indica* و نیز مخلوط سه باکتری *Pseudomonas areuginosa*، *P. putida* و *P. fluorescens* از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، حفظ مقادیر کلروفیل، کاهش انباشت یون‌های کلر و سدیم و افزایش نسبت پتاسیم به سدیم، سبب بهبود رشد گیاه و میزان تولید اسانس در شرایط شوری گردید. براساس نتایج این تحقیق می‌توان از اثرهای مثبت رابطه همزیستی با ریزجانداران محرک رشد در قالب کودهای زیستی، برای بهبود رشد، عملکرد و میزان اسانس ریحان در شرایط شوری آب و خاک و در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار استفاده کرد.

References

- Acosta-Motos, J.R., Ortuño, M.F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M.J. and Hernandez, J.A., 2017. Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. Agronomy, 7(1): 18.
- Akbari, T., Rostami, M., Ghabooli, M. and Movahedi, Z., 2021. Effect of *Piriformospora indica* on reducing the negative effects of salinity stress in lemon balm (*Melissa officinalis*). Journal of Crop Science Research in Arid Regions, 2(2): 219-229.
- Archangi, A. and Khodambashi, M., 2014. Effects of salinity stress on morphological characteristics, essential oil content and ion accumulation in basil (*Ocimum basilicum*) plant under hydroponic conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 5(17): 125-138.
- Arvin, P. and Firouzeh, R., 2022. Effects of salinity stress on physiological and biochemical traits of some fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) populations. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37(5): 822-837.
- Ashraf, M., 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora, 199: 361-376.
- Ashraf, M. and Akhtar, N., 2004. Influence of salt stress on growth, ion accumulation and seed oil content in sweet fennel. Biologia Plantarum, 48(3): 461-464.
- Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O. and Mahmood, T., 2004. Inoculating wheat seedling with exopolysaccharide-producing bacteria restricts

status in *Mentha arvensis*. Acta Physiologiae Plantarum, 36: 45-60.
- Bonacina, C., Trevizan, C.B., Stracieri, J., dos Santos, T.B., Gonçalves, J.E., Gazim, Z.C. and de Souza, S.G.H., 2017. Changes in growth, oxidative metabolism and essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) subjected to salt stress. Australian Journal of Crop Science, 11(12): 1665-1674.
- Chrysargyris, A., Michailidi, E. and Tzortzakis, N., 2018. Physiological and biochemical responses of *Lavandula angustifolia* to salinity under mineral foliar application. Frontiers in Plant Science, 489: 1-23.
- Çoban, Ö. and Baydar, N.G., 2016. Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. Industrial Crops and Products, 86: 251-258.
- Cotteni, A., 1980. Methods of plant analysis: 64-100. In: Westerman, R.L. (Ed.). Soil and Plant Testing. FAO Soil Bulletin, 784p.
- Dehghani Bidgoli, R., Azarnezhad, N., Akhbari, M. and Ghorbani, M., 2019. Salinity stress and PGPR effects on essential oil changes in *Rosmarinus officinalis* L. Agriculture and Food Security, 8: 1-7.
- Dell'Amico, E., Cavalca, L. and Andreoni, V., 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. Soil Biology and Biochemistry, 40(1): 74-84.
- Ebrahimi, Z., Morshedloo, M.R. and Hasanpour Aghdam, M.B., 2021. Study on physiological traits, percentage and essential oil components of two oregano subspecies (*Origanum vulgare* subsp. *gracile* (K.Koch) letsw. and *O. vulgare* subsp. *hirtum* (Link) letsw.) under salinity stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37(4): 563-583.
- Egamberdieva, D., 2009. Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat. Acta Physiologiae Plantarum, 31(4): 861-864.
- El-Keltawi, N.E. and Croteau, R., 1987. Salinity depression of growth and essential oil formation in sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. Biology and Fertility of Soils, 40(3): 157-162.
- Aslani, Z., Hassani, A., Abdollahi Mandoulakani, B., Barin, M. and Maleki, R., 2021. Effect of plant growth- promoting microorganisms inoculation on some growth and physiological parameters and nutrients content of sage (*Salvia officinalis*) under salinity stress conditions. Applied Soil Research, 9(3): 104-122.
- Azimzadeh, Z., Hassani, A., Abdollahi Mandoulakani, B. and Sepehr, E., 2021. Effects of salinity stress on some morpho-physiological characteristics, essential oil content, and ion relations of two oregano subspecies (*Origanum vulgare* ssp. *vulgare* & ssp. *gracile*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37(4): 658-674.
- Bahcesular, B., Yildirim, E.D., Karaçocuk, M., Kulak, M. and Karaman, S., 2020. Seed priming with melatonin effects on growth, essential oil compounds and antioxidant activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) under salinity stress. Industrial Crops and Products, 146: 112165.
- Balasubramaniam, T., Shen, G., Esmaeili, N. and Zhang, H., 2023. Plants' response mechanisms to salinity stress. Plants, 12(12): 2253.
- Bano, A. and Fatima, M., 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L). following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. Biology and Fertility of Soils, 45(4): 405-413.
- Bazyar, M., Bandehagh, A. and Farajzadeh, D., 2017. Effect of inoculation of *Pseudomonas fluorescens* FY32 bacteria to reduce the effects of salinity on canola (*Brassica napus* L.). Journal of Crop Production, 9(4): 201-220.
- Ben Taarit, M., Msaada, K., Hosni, K., Hammami, M., Kchouk, M.E. and Marzouk, B., 2009. Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. Industrial Crops and Products, 30: 333-337.
- Bharti, N., Barnawal, D., Awasthi, A., Yadav, A. and Kalra, A., 2014. Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity induced negative effects on growth, oil content and physiological

- Ghorbani, A., Razavi, S.M., Omran, V.O.G. and Pirdashti, H., 2018a. *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. Russian Journal of Plant Physiology, 65(6): 898-907.
- Ghorbani, A., Razavi, S.M., Ghasemi Omran, V. and Pirdashti, H., 2018b. *Piriformospora indica* inoculation alleviates the adverse effect of NaCl stress on growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Plant Biology, 20(4): 729-736.
- Ghorbanpour, M., Hosseini, N., Khodae Motlagh, M. and Solgi, M., 2014. The effects of inoculation with *Pseudomonas* rhizobacteria on growth, quantity and quality of essential oils in Sage (*Salvia officinalis* L.) plant. Journal of Medicinal Plants, 13(52): 89-100.
- Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M.R., Fotopoulos, V. and Kimura, S., 2020. Titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. Scientific Reports, 10: 912.
- Gill, S.S., Gill, R., Trivedi, D.K., Anjum, N.A., Sharma, K.K., Ansari, M.W., Ansari, A.A., Johri, A.K., Prasad, R., Pereira, E., Varma, A. and Tuteja, N., 2016. *Piriformospora indica*: Potential and significance in plant stress tolerance. Frontiers in Microbiology, 7: 332.
- Glick, B.R., 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research, 169(1): 30-39.
- Hammer, E.C., Nasr, H., Pallon, J., Olsson, P.A. and Wallander, H., 2011. Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity. Mycorrhiza, 21: 117-129.
- Hao, S., Wang, Y., Yan, Y., Liu, Y., Wang, J. and Chen, S., 2021. A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance. Horticulturae, 7: 132.
- Hassanvand, F., Rezaei Nejad, A. and Fanourakis, D., 2019. Morphological and physiological components mediating the silicon-induced enhancement of geranium essential oil yield under saline conditions. Industrial Crops and Products, 134: 19-25.
spearmint and marjoram and its reversal by foliar applied cytokinin. Phytochemistry, 26: 1333-1334.
- Emami, A., 1996. Plant Analysis Methods. No. 982. Vol. 1. Soil and Water Research Institute Publication, Tehran, 128p.
- Emami Bistgani, Z., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F. and Morshedloo, M.R., 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products, 135: 311-320.
- Enteshari, Sh. and Hajbagheri, S., 2011. Effects of mycorrhizal fungi on some physiological characteristics of salt stressed *Ocimum basilicum* L. Iranian Journal of Plant Physiology, 1(4): 215-222.
- Esmaielpour, B., Shiekhalipour, M. and Torabi-Giglo, M., 2020. Effects of zinc nanoparticles on growth, some physiological characteristics, and essential oil yield of *Dracocephalum moldavica* L. under salinity stress conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant Research, 36(5): 867-884.
- Evelin, H., Kapoor, R. and Giri, B., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review. Annals of Botany, 104(7): 1263-1280.
- Evelin, H., Giri, B. and Kapoor, R., 2013. Ultrastructural evidence for AMF mediated salt stress mitigation in *Trigonella foenum-graecum*. Mycorrhiza, 23: 71-86.
- Faghih Abdollahi, L., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y. and Alavi, S.M., 2015. Effect of *Piriformospora indica* and *Trichoderma tomentosum* fungi on basil (*Ocimum basilicum* L.) growth under copper nitrate levels. Journal of Soil Management Sustainable Production, 5(1): 113-127.
- Farkhondeh, R., Nabizadeh, E. and Jalilnezhad, N., 2012. Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relation in two sugar beet cultivars. International Journal of Agricultural Science, 2: 385-392.
- Farsaraei, S., Moghaddam, M. and Pirbalouti, A.G., 2020. Changes in growth and essential oil composition of sweet basil in response of salinity stress and superabsorbents application. Scientia Horticulturae, 271: 109465.

physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). Tarim Bilimleri Dergisi, 13(2): 114-119.
- Keramati, S., Pirdashti, H.A., Babaezadeh, V.A. and Dahestani, A., 2017. Assessment of the effect of *Piriformospora indica* symbiosis and paclobutrazol application on growth parameters in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) in response to salinity stress. Journal of Plant Production, 24(2): 1-22.
- Khademian, R., Asghari, B., Sedaghati, B. and Yaghoubian, Y., 2019. Plant beneficial rhizospheric microorganisms (PBRMs) mitigate deleterious effects of salinity in sesame (*Sesamum indicum* L.): Physio-biochemical properties, fatty acids composition and secondary metabolites content. Industrial Crops and Products, 136: 129-139.
- Khair-ul-Bariyah, S., Ahmed, D. and Ikram, M., 2012. *Ocimum basilicum*: A review on phytochemical and pharmacological studies. Pakistan Journal of Chemistry, 2(2): 78-85.
- Khalvandi, M., Amerian, M., Pirdashti, H., Baradaran, M. and Golami, A., 2017a. *Piriformospora indica* symbiotic effect on the quantity and quality of essential oils and some physiological parameters of peppermint (*Mentha piperita*) under salt stress. Journal of Plant Process and Function, 6(21): 169-184.
- Khalvandi, M., Amerian, M., Pirdashti, H., Baradaran, M. and Golami, A., 2017b. Effects of *Piriformospora indica* fungi symbiotic on the quantity of essential oil and some physiological parameters of peppermint in saline conditions. Iranian Journal of Plant Biology, 32: 1-19.
- Khalvandi, M., Amerian, M., Pirdashti, H., Keramati, S. and Hosseini, J., 2019. Essential oil of peppermint in symbiotic relationship with *Piriformospora indica* and methyl jasmonate application under saline condition. Industrial Crops and Products, 127: 195-202.
- Lally, R.D., Galbally, P., Moreira, A.S., Spink, J., Ryan, D., Germaine, K.J. and Dowling, D.N., 2017. Application of endophytic *Pseudomonas fluorescens* and a bacterial consortium to *Brassica napus* can increase plant height and biomass under greenhouse
- Heidari Sharif Abad, H., 2001. Plants and Salinity. Research Institute of Forests and Rangelands Publications, Tehran, 199p.
- Heidari, M., 2012. Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes. African Journal of Biotechnology, 11(2): 379-384.
- Homaei, M., 2002. Plant Response to Salinity. National Committee on Irrigation and Drainage Publications, 97p.
- Hu, Y. and Schmidhalter, U., 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 168: 541-549.
- Jayasinghe, C., Gotoh, N., Aoki, T. and Wada, S., 2003. Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(15): 4442-4449.
- Jindal, V., Atwal, A. and Singh, R., 1993. Effect of Vesicular-arbuscular mycorrhizae on metabolism of moong plant under NaCl salinity. Plant Physiology, 31: 475-481.
- Jogawat, A., Saha, S., Bakshi, M., Dayaman, V., Kumar, M., Dua, M., Varma, A., Oelmüller, R., Tuteja, N. and Johri, A.K., 2013. *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. Plant Signaling and Behavior, 8(10): e26891.
- Johnson, C.M. and Ulrich, A., 1975. Analytical methods for use in plant analysis. Bulletin of the California Agricultural Experiment Station, 78p.
- Kadian, N., Yadav, K., Badda, N. and Aggarwal, A., 2013. AM fungi ameliorates growth, yield and nutrient uptake in *Cicer arietinum* L. under salt stress. Russian Agricultural Sciences, 39(4): 321-329.
- Käfer, E., 1977. Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. Advanced Genetics, 19: 33-131.
- Kapoor, R., Anand, G., Gupta, P. and Mandal, S., 2017. Insight into the mechanisms of enhanced production of valuable terpenoids by arbuscular mycorrhiza. Phytochemistry Reviews, 16(4): 677-692.
- Kaydan, D., Yagmur, M. and Okut, N., 2007. Effects of salicylic acid on the growth and some

- Mohamed, H.I. and Gomma, E.Z., 2012. Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. Photosynthetica, 50(2): 263-272.
- Mulvaney, R.L., 1996. Nitrogen-inorganic forms. 1123-1184. In: Sparks, D.L. (Ed.). Methods of Soil Analysis-Part 3. Chemical Methods-SSSA Book Series No. 5. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, 1390p.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environment, 25: 239-250.
- Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M. and Arshad, M., 2009. Rhizobacteria containing ACC deaminase confer salt tolerance in maize grown on salt-affected fields. Canadian Journal of Microbiology, 55(11): 1302-1309.
- Nagananda, G.S., Das, A., Bhattacharya, S. and Kalpana, T., 2010. In vitro studies on the effects of biofertilizers (*Azotobacter* and *Rhizobium*) on seed germination and development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. International Journal of Botany, 6(4): 394-403.
- Naseem, H. and Bano, A., 2014. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. Journal of Plant Interactions, 9(1): 689-701.
- Parida, A.K., Das, A.B. and Mittra, B., 2004. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove. Trees, 18(2): 167-174.
- Parida, A.K. and Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60(3): 324-349.
- Philips, J. and Hayman, D., 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55: 158-161.
- Purushothaman, B., Srinivasan, R.P., Suganthi, P., Ranganathan, B., Gimbun, J. and Shanmugam, K., 2018. A comprehensive review on *Ocimum basilicum*. Journal of Natural Remedies, 18(3): 71-85.
and field conditions. Frontiers in Plant Science, 8: 2193.
- Lamian, A., Naghdi Badi, H., Ladan Moghadam, A. and Mehrafarin, A., 2015. Changes of morpho-physiological traits, essential oil and methyl chavicol content of Tarragon (*Artemisia dracunculus*) in response to mycorrhiza (*Glomus intraradices*) inoculation and salinity stress. Journal of Medicinal Plants, 14(56): 64-77.
- Lee, Y.C., Johnson, J.M., Chien, C.T., Sun, C., Cai, D., Lou, B., Oelmüller, R. and Yeh, K.W., 2011. Growth promotion of Chinese cabbage and Arabidopsis by *Piriformospora indica* is not stimulated by mycelium-synthesized auxin. Molecular Plant-Microbe Interactions, 24(4): 421-431.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 148: 350-382.
- Liu, W., Tan, M., Qu, P., Huo, C., Liang, W., Li, R., Jia, Y., Fan, X. and Cheng, C., 2022. Use of *Piriformospora indica* to promote growth of Strawberry daughter plants. Horticulturae, 8(5): 370.
- McMillen, B.G., Juniper, S. and Abbott, L.K., 1998. Inhibition of hyphal growth of a Vesicular arbuscular mycorrhizal fungus in soil containing sodium chloride limits the spread of infection from spores. Soil Biology and Biochemistry, 30(13): 1639-1646.
- Meena, K.K., Mesapogu, S., Kumar, M., Yandigeri, M.S., Singh G. and Saxena, A.K., 2010. Co-inoculation of the endophytic fungus *Piriformospora indica* with the phosphate-solubilising bacterium *Pseudomonas striata* affects population dynamics and plant growth in chickpea. Biology and Fertility of Soils, 46(2): 169-174.
- Meena, V.S., Meena, S.K., Verma, J.P., Kumar, A., Aeron, A., Mishra, P.K., Bisht, J.K., Pattanayak, A., Naveed, M. and Dotaniya, M.L., 2017. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: a review. Ecological Engineering, 107: 8-32.

Piriformospora indica affects plant growth by auxin production. Physiologia Plantarum, 131: 581-589.
- Talaat, N.B., Ghoniem, A.E., Abdelhamid, M.T. and Shawky, B.T., 2015. Effective microorganisms improve growth performance, alter nutrients acquisition and induce compatible solutes accumulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants subjected to salinity stress. Plant Growth Regulation, 75: 281-295.
- Touiss, I., Ouahhoud, S., Harnafi, M., Khatib, S., Bekkouch, O., Amrani, S. and Harnafi, H., 2021. Toxicological evaluation and hepatoprotective efficacy of Rosmarinic acid-rich extract from *Ocimum basilicum* L. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021: 6676998.
- Turner, N.C., 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. Plant and Soil, 58: 339-366.
- Wu, C.H., Wood, T.K., Mulchandani, A. and Chen, W., 2006. Engineering plant-microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals. Applied and Environmental Microbiology, 72: 1129-1134.
- Yang, J.W., Kloepper, J.W. and Ryu, C.M., 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends in Plant Science, 14: 1-4.
- Yu, Y., Xu, T., Li, X., Tang, J., Ma, D., Li, Z. and Sun, J., 2016. NaCl-induced changes of ion homeostasis and nitrogen metabolism in two sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) cultivars exhibit different salt tolerance at adventitious root stage. Environmental and Experimental Botany, 129: 23-36.
- Zeng, J., Chen, A., Li, D., Yi, B. and Wu, W., 2013. Effects of salt stress on the growth, physiological responses, and glycoside contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(24): 5720-5726.
- Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C. and Wang, P., 2021. Regulation of plant responses to salt stress. International Journal of Molecular Sciences, 22(9): 4609.
- Zrig, A., Tounekti, T., AbdElgawad, H., Hegab, M.M., Ali, S.O. and Khemira, H., 2016. Essential
- Rajkumar, M., Bruno, L.B. and Banu, J.R., 2017. Alleviation of environmental stress in plants: the role of beneficial *Pseudomonas* spp. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 47(6): 372-407.
- Rasouli-Sadaghiani, M.H., Barin, M., Ashrafi-Saeidlou, S. and Shakouri, F., 2019. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and mycorrhizal fungi on the growth parameters of corn (*Zea mays* L.) under salinity condition. Applied Soil Research, 7(3): 25-39.
- Salimi, A., Rowshan, V. and Khanpoor, E., 2017. Effect of salinity on quality and quantity of essential oil components and antioxidant activity in yarrow (*Achillea millefolium* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 32(6): 948-957.
- Santos, C.V., 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Scientia Horticulturae, 103: 93-99.
- Sarikhani, M.R. and Amini, R., 2020. Biofertilizer in sustainable agriculture: Review on the researches of biofertilizers in Iran. Agricultural Science and Sustainable Production, 30(1): 329- 365.
- Seraj, F., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y. and Ghasemi Omran, V., 2016. The effect of *Piriformospora indica* inoculation on salt and drought stress tolerance in *Stevia rebaudiana* under in vitro conditions. Iranian Journal of Plant Biology, 29: 1-20.
- Seyed, M.A., Ayesha, S., Azmi, N., Al-Rabae, F.M., Al-Alawy, A.I., Al-Zahrani, O.R. and Hawsawi, Y., 2021. The neuroprotective attribution of *Ocimum basilicum*: a review on the prevention and management of neurodegenerative disorders. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 7(1): 1-14.
- Siddiqui, M.N., Mohammad, F., Khan, M.M.A. and Al-Whaibi, M.H., 2012. Cumulative effect of nitrogen and sulphur on *Brassica juncea* L. genotypes under NaCl stress. Protoplasma, 249: 139-153.
- Sirrenberg, A., Göbel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, A., Karlovsky, P., Santos, P., Feussner, I. and Pawlowski, K., 2007.

oils, amino acids and polyphenols changes in salt-stressed *Thymus vulgaris* exposed to open–field and shade enclosure. Industrial Crops and Products, 91: 223-230.

- Zolfaghari, M., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Rejali, F., 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. Iranian Journal of Plant Physiology, 3(2): 643-650.